УДК 619:616.98:578.823.1

Е.В. Капускин

ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ВАКЦИННОГО ВИРУСА ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ШТАММА «ВНИИЗЖ»

Введение

Для получения вакцинных и диагностических препаратов большое значение имеет вируссодержащее сырье с высокой биологической активностью.

Известно, что вирус чумы мелких жвачных (ЧМЖ) репродуцируется в различных клеточных системах, в том числе в первично трипсинизированных (почка ягненка, тестикул ягненка, почка козленка, тестикул козленка, эмбриональные клетки почки мелких жвачных, клетки кожи эмбриона овцы, клетки почек обезьян) и в перевиваемых (почка теленка (MDBK), почка сайгака (ПС), почка овцы (ПО), почка эмбриона свиньи (СПЭВ), почка свиньи (IB-RS-2), почка сирийского хомячка (BHK-21), почка африканской зеленой мартышки (VERO) и др.) [1, 2, 3, 4, 5].

В результате проведенных ранее исследований впервые нами показана высокая чувствительность к вирусу ЧМЖ штамма «ВНИИЗЖ» перевиваемой культуры клеток гонады козы (Ch-91). Для получения вируссодержащего сырья с высокой биологической активностью необходимы не только наиболее чувствительная культура клеток, но и оптимальные условия культивирования.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы являлась оптимизация условий культивирования вакцинного вируса ЧМЖ штамма «ВНИИЗЖ».

Материалы и методы

Для культивирования в стационарных условиях лиофилизированный, аттенуированный на перевиваемой культуре клеток Ch-91, штамм «ВНИИЗЖ» вируса ЧМЖ разводили поддерживающей средой Игла до первоначального объема (1 см^3). В работе использовали вирус с активностью 5,0 lg ТЦД$_{50}$/см^3 и выше. Разведенную вируссодержащую суспензию вносили на предварительно отмытый от ростовой среды раствором Хенкса 2-3-суточный монослой культуры клеток Ch-91, выращенный в 1,5 дм^3 клинских матрасах и экспонировали в течение часа при 37±0,5° С, после чего вирус удаляли, монослой однократно отмывали и в матрасы с культурой клеток вносили по 200 см^3 поддерживающей среды. В дальнейшем инфицируемую культуру клеток просматривали под микроскопом перед сменой среды и ежедневно для оценки цитопатического действия (ЦПД) вируса. Смену среды проводили через каждые 2 суток. Инфицированную культуру инкубировали при 37° С, и при поражении площади монослоя не менее 70-80%, клетки 3-кратно промораживали, производили сбор вируса с последующим отбором проб для исключения микробной контаминации и определения инфекционной активности вируса титрованием в культуре клеток Ch-91. Полученный материал снова замораживали и хранили при температуре минус 40° С до получения результатов контроля.

Результаты и обсуждение

Изучали накопление вируса ЧМЖ штамма «ВНИИЗЖ» в культуре клеток Ch-91 в зависимости от величины инфицирующей дозы, состава поддерживающей среды и других факторов.

Накопление вируса ЧМЖ в культуре клеток Ch-91 при разной множественности инфицирования. С этой целью монослойную культуру клеток Ch-91, выращенную в 50 см^3 флаконах, инфицировали вирусом ЧМЖ в дозах 1,0; 0,1; 0,01 и 0,001 ТЦД$_{50}$/кл и инкубировали при 37° С со сменой среды через 2-3 суток. Через каждые сутки после инфицирования из групп брали по 3 флакона на протяжении 15 суток и промораживали при минус 20° С. После оттаивания определяли активность вируссодержащих суспензий методом титрования в культуре клеток Ch-91. Динамика накопления вируса ЧМЖ в зависимости от дозы заражения представлена на рис.

Данные рис. показывают, что при дозе инфицирования 0,1 ТЦД$_{50}$/кл на 7-8 сутки активность вируса в суспензии достигала 6,0-6,25 lg ТЦД$_{50}$/см^3 с наличием ЦПД на 70-90% поверхности монослоя. При множественности заражения 1,0 ТЦД$_{50}$/кл накопление вируса шло быстрее, но активность при этом не превышала 5,25 lg ТЦД$_{50}$/см^3, а при множественности заражения 0,01-0,001 ТЦД$_{50}$/кл титр вируса достигал 5,50-5,75 lg ТЦД$_{50}$/см^3, однако при этом увеличивалось время культивирования до 9-11 суток.

Накопление вируса в зависимости от